

BEEINFLUSSUNG DES ADENOSINTRIPHOSPHATGEHALT
UND DER FETTSÄURESYNTHESE
DURCH HEMMENDE UND FÖRDERNDE FAKTOREN

Syrus Golsorkhi

1964



Digitized by the Internet Archive
in 2026

BEEINFLUSSUNG DES ADENOSINTRIPHOSPHATGEHALT
UND DER FETTSÄURESYNTHESE
DURCH HEMMENDE UND FÖRDERNDE FAKTOREN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig - Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von
Syrus Golsorkhi
aus IRAN

München 1964

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. W. SEITZ
Dekan: Professor Dr. R. BACHMANN

Tag der mündlichen Prüfung: 7. 7. 1964



AN MEINE LIEBE FRAU

INHALTSVERZEICHNIS

Die biologische Synthese der Fettsäure	7
Die Rolle der ATP	11
Experimenteller Teil	12
Notwendige Reaktion	12
Herstellung der Lösung	12
Versuchsordnung	13
Neutralisation	14
Berechnung	16
Störungen	16
Ergebnis	17
Zusammenfassung	35
Literatur	37
Lebenslauf	38

DIE BIOLOGISCHE SYNTHESE DER FETTSÄUREN

Aus der Tatsache, daß man Tiere durch reichliche Kohlenhydrat- oder Eiweißzufuhr mästen kann, geht hervor, daß offenbar Fettsäuren im großen Umfang aus andersartigem Material gebildet werden können.

Diese Annahme, daß im Organismus eine Synthese der Fettsäure im großen Umfang stattfindet, wurde durch die Isotopenmethode auf elegante Weise bestätigt. Wenn bei der Synthese von organischen Verbindungen, die bei Gegenwart von schwerem Wasser stattfindet, Deuterium in das Molekül aufgenommen wird, ist der Deuteriumgehalt ein Maß für den Umfang der Synthese.

Bernhard und Schoenheimer haben mit dieser Methode die Fettsäuresynthese bei Mäusen untersucht. Am meisten Deuterium enthielten die gesättigten Fettsäuren der Leber, etwas weniger die Fettsäuren des Darmes, am wenigsten die Fettsäuren der Depots. Die Neubildung in der Leber ist sehr hoch; man kann berechnen, daß in 24 Stunden etwa die Hälfte der Leberfettsäuren regeneriert wird. Bedeutend weniger Deuterium als die gesättigte Säure hatte die Oelsäure aufgenommen (nur etwa ein Fünftel).

Sie kann daher nicht einfach durch Dehydrierung der Stearinsäure entstanden sein, sondern muß auf einem unabhängigen Weg gebildet werden, möglicherweise aus größeren Bruchstücken als die gesättigten Fettsäuren.

Da die natürlichen, in den Fetten vorkommenden Säuren alle eine gerade Zahl von Kohlenstoffatomen besitzen, liegt die Vermutung nahe, daß sie durch Kondensation aus einer Zweikohlenstoffverbindung entstanden sind. Die Synthese der Fettsäuren wäre demnach eine Art Umkehrung ihres Abbaus, bei welchem die Kohlenstoffkette durch die β -Oxydation sukzessive um zwei C-Atome verkürzt wird. Die dabei auftretenden Fragmente können unter gewissen Bedingungen durch Kondensation zu Acetessigsäure stabilisiert werden. Es entsteht nun die Frage, welcher Art die Fragmente sind, die sowohl beim Abbau wie beim Aufbau der Fettsäuren in Erscheinung treten.

Sie müssen offenbar in engerer Beziehung zur Essigsäure stehen, und es besteht in der Tat ein enger Zusammenhang zwischen dem Stoffwechsel der höheren Fettsäuren und demjenigen der Essigsäure. Die Bildung von Fettsäuren aus Acetat ist durch die Isotopenmethode einwandfrei nachgewiesen worden.

Rittenberg und Bloch verabreichten an Ratten doppelt markierte Essigsäure (schwerer Kohlenstoff in der Carboxyl-Deuterium in der Methylgruppe).

Die aus dem Körperfett der Tiere isolierten Fettsäuren enthielten in ihrer Carboxylgruppe die doppelte Konzentration des C-Isotops wie der Durchschnitt des ganzen Moleküls. Es muß also jedes zweite Kohlenstoffatom der Kette sich aus dem

Carboxyl der Essigsäure ableiten, wie diese zu erwarten ist, wenn die Kohlenstoffkette durch Kondensation der Essigsäuremolekül entstanden ist. Aus dem Fettsäuregemisch wurde ferner die Oelsäure isoliert und an der Doppelbindung durch Oxydation gespalten (Spaltung der C_{18} -kette in zwei C_9 -ketten).

Beide Isotopen waren gleichmäßig auf die beiden Bruchstücke verteilt. Versuche mit Mikroorganismen führten zu ähnlichen Ergebnissen. Die Fettsäuren müssen also durch Aneinanderreihung von Essigsäuremolekülen entstanden sein.

Das Acetat scheint also im Fettsäurestoffwechsel eine zentrale Stellung einzunehmen;

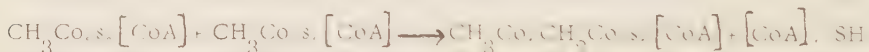
Einerseits kann es als Baustein zur Synthese der Fettsäuren dienen, andererseits tritt es in Form eines reaktionsfähigen C_2 -Fragmentes auch bei deren Abbau in Erscheinung.

Nach Isotopenversuchen ist es sicher, daß höhere Fettsäuren aus Acetat gebildet werden können. Es sind bisher keine anderen Verbindungen bekannt worden, welche direkt, d. h. ohne vorherigen Abbau zu Acetat, in der Fettsäuremoleküle übergehen.

Bei der Fettsäuresynthese aus Acetat muß die Essigsäure zuerst in die aktivierte Form übergehen, wie dies bei der einfachen Kondensation zu Acetacetat der Fall ist.

Durch die Entdeckung des Acetyl-Coenzym A ist es möglich geworden, den Mechanismus der Acetessigsäurebildung wie auch den Abbau und die Synthese der C-ketten der Fettsäuren weitgehend aufzuklären.

Bei der Bildung der Acetessigsäure reagieren zwei Moleküle aktivierter Essigsäure nach folgender Gleichung:



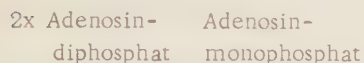
Diese Reaktion ist unkehrbar. Acetessigsäure wird zunächst in die CoA-Verbindung übergeführt, eine Reaktion, zu welcher ATP nötig ist. Es folgt dann die Anlage eines zweiten Moleküls CoA an die Carbonylgruppe mit nachfolgender Spaltung (Thioklastische Spaltung) in zwei Moleküle aktivierter Essigsäure die wie oben erwähnt, z. B. in den Citronensäurecyklus eintreten können.

ATP- und Coenzym A abhängige Vorgänge

Das durch die oxydative oder glycolytische Phosphorylierung gebildete ATP enthält in seinen beiden Anhydridbindungen chemische Energie in einer Form, welche die Zelle für alle möglichen Leistungen unmittelbar verwerten kann.

Wir haben verschiedene Reaktionen, die vom ATP abhängig sind. Es scheint, daß

bei den meisten ATP-abhängigen Reaktionen nur die eine der beiden energiereichen Phosphatgruppen unmittelbar reagiert und abgespalten wird. Dabei entsteht ADP, das wieder zu ATP phosphoryliert werden kann. Trotzdem das ADP, soviel wir heute wissen, das ATP bei keiner Fermentreaktion direkt vertreten kann, ist doch die Ausnützung seiner labilen Phosphatgruppe möglich. Es ist nämlich in verschiedenen Geweben (Muskel, Leber, Niere) ein Ferment nachgewiesen worden, welches durch Dismutation aus zwei Molekülen ADP wieder ATP entstehen läßt. Die Reaktion ist umkehrbar.



Dieses von Colowick und Kalckar entdeckte Ferment heißt Myokinase (ATP-Phosphatase). Auf diese Weise können bei jeder für ATP spezifischen Reaktion die beiden energiereichen Phosphatgruppen in die Reaktion einbezogen werden. Wahrscheinlich reagiert bei allen Transphosphorylierungen das ATP immer nur mit einer seiner labilen Gruppen, und es ist andererseits das ADP der einzige Phosphatakzeptor. Durch die Myokinase aber auf dem angedeuteten Weg trotzdem beide energiereichen Phosphatbindungen ausgenützt werden.

Die Reaktionen, die vom ATP abhängig sind:

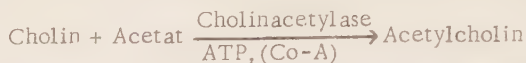
a) Muskelkontraktion, b) Phosphokreatin, c) Hexokinaserreaktion, d) Bildung der glycosidischen Bindung, e. Coenzym A-abhängige Reaktionen: Acetylierung, Citronensäure- und Fettsäuresynthese; Die reaktionsfähige Form der Essigsäure (die aktivierte Essigsäure) die S-Acetylverbindung des Co-enzym A ist, der an Schwefel gebundene Acetylrest kann durch besondere Fermente, die Acetokinasen (oder auch Transacetylasen), auf andere Verbindungen (Acetylakzeptoren) übertragen werden. Die Acetylmerkaptanbindung gehört zu den energiereichen Bindungen:

$\Delta F_0 = -1200 \text{ Cal. / Mol.}$ Wenn daher die freie Essigsäure reaktionsfähig gemacht werden soll, muß sie zuerst unter Energieaufwand in die Coenzym A-Verbindung übergeführt werden. Dazu ist ATP nötig.

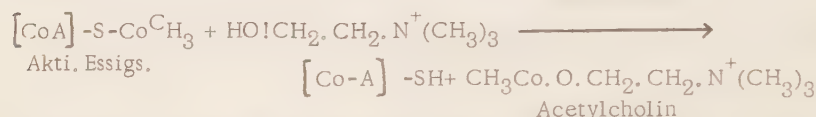
Die aktivierte Essigsäure kann aber auch beim Abbau gewisser Verbindungen direkt gebildet werden. Die Aufspaltung des Acetylrests erfolgt unter Aufnahme von Coenzym A. Die Energie für die Bildung des Acetylmerkaptans wird durch den Spaltungsvorgang selber geliefert. Sie ist mit demselben energetisch gekoppelt. Die fraglichen Verbindungen können daher in Gegenwart der geeigneten Fermente (Transacetylasen) als Acetyldonatoren wirken.

Eine wichtige Reaktion ist die Acetylierung des Cholins. Das Fermentssystem das diese Reaktion bewirkt, findet sich z. B. in Gehirnestrukturen. Damit die Synthese

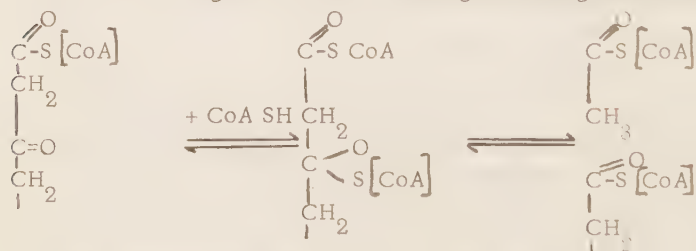
des Acetylcholins zustande kommt, sind ATP und Coenzym A nötig.



Wir wissen, daß die Acetylierung des Cholins wie alle Acetylierungen durch die Aktivierte Essigsäure d. h. durch die Acetylmercaptangruppe des Coenzym-A erfolgt.



man muß also annehmen, daß das ATP zur Bildung der aktivierten Essigsäure nötig ist. Eine direkte Bildung von aktivierter Essigsäure muß auch beim Abbau der Fettsäuren angenommen werden. Die Fettsäuremoleküle werden in α -Stellung oxydiert aus den entstandenen β -Ketonsäuren wird das C_2 -Fragment als aktivierte Essigsäure abgespalten und in den Citronensäurecyclus einbezogen. Umgekehrt entstehen die Fettsäureketten durch Kondensation von "aktivierter" Essigsäure. Beim Fettsäureabbau wird das Acetyl-Coenzym-A in umkehrbarer Reaktion durch "Thiolyse" von β -Ketonsäuren geliefert nach dem folgenden allgemeinen Schema:



Die freie Energie der Säurespaltung, der Acetessigsäure, beträgt etwa 1000 Cal. Mol., für die höheren β -Ketonsäuren ist sie wohl von ähnlicher Größe. Die Reaktion ist also stark exergonisch. Dies erklärt, warum bei der Spaltung nach dem obigen Schema direkt "aktivierte" Essigsäure entstehen kann. Die Thiolastische Spaltung der β -Ketocarbonsäure kann allerdings nur dann einsetzen, wenn die Carboxylgruppe als Acylmercaptan vorliegt. Der Thiolyse muß also die Bildung der Säure an das Coenzym A vorangehen, eine Reaktion, die wohl nach dem gleichen Mechanismus verläuft wie die Bildung der "aktivierten" Essigsäure aus dem Acetat, also von ATP abhängig ist. Es ist daher mit der "Bildung" der Fettsäureoxydation der Aufwand von einer energiereichen Phosphatbindung nötig. Ist aber die Reaktion einmal durch die Bindung des Acylmercaptan eingeleitet, so kann die Aufspaltung der Fettsäurekette durch Thiolyse ohne weitere Beteiligung des ATP vor sich gehen.

Die Rolle der ATP :

Energiereiche Phosphatbindungen können im Stoffwechsel entstehen durch Substratphosphorylierung oder in Verbindung mit der biologischen Oxydation durch Atmungskettenphosphorylierung. Dabei muß beachtet werden, daß energieliefernde und energieverbrauchende Reaktionen immer miteinander gekoppelt sind. Die energieliefernden Abbauvorgänge sind gekoppelt mit dem energieverbrauchenden Aufbau von Adenosintriphosphorsäure.



Für die energieverbrauchenden Reaktionen liefert der umgekehrte Vorgang:



die Energie. Adenosintriphosphorsäure spielt also die Rolle eines Energie-überträgers.

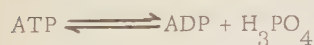
Z. b. Zu den biologisch wichtigen energiereichen P-Bindungen gehört die $\sim$ P-Bindung der Kreatinphosphorsäure. Sie steht mit ATP im Gleichgewicht:



Sie überträgt aber ihre energiereiche P-Bindung offenbar nur auf ADP und ist damit als Energiespeicher zu betrachten, die ATP dient dagegen ganz allgemein der Energieübertragung. Es können unter Wärmeverlust energiereiche P-Bindungen von einer auf einer andere Substanz übergehen, oder es können aus energiereichen energiearme Bindungen gebildet werden:

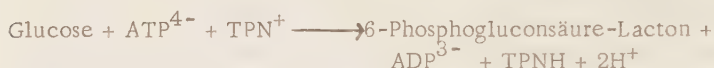
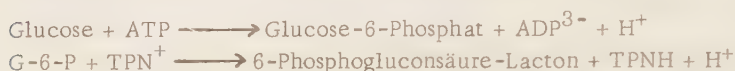


Aus der ATP wird im allgemeinen im Organismus 1 Mol Phosphorsäure abgespalten. Das Ferment dieser Reaktion ist die Adenosintriphosphorsäure (ATP-ase).



Prinzip:

Hexokinase(HK) phosphoryliert Glucose mit ATP in Anwesenheit von Mg^{++} ($MgCl_2$) zu Glucose-6-Phosphat (G-6-P). Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase(Zwischenferment) katalysiert die daran gekoppelte bimolekulare Reaktion der Dehydrierung von G-6-P mit oxydierten Triphosphopyridinnukleotid(TPN₂). Die Bilanzreaktion gibt beim Umsatz von 1 Mol ATP die Bildung von 1 Mol TPNH



Hexokinase setzt ATP bei entsprechendem Glucose, Coenzym und Mg^{++} -Angebot praktisch quantitative um. Bei Substratsättigung verestert HK in der Minute 13000 Mol Glucose pro 10^5 gr. Enzym.

Bei tragbarem Überschuß an Glucose und TPN⁺ und in Gegenwart ausreichender Mg^{++} -Mengen laufen beide enzymatischen Reaktionen schnell ab und überführen ATP quantitativ in ADP und G-6-P. TPNH dient als Meßgröße, es entsteht im Stöchiometrischen Verhältnis zum totalen G-6-P Umsatz.

Notwendige Reagentien

1. Triäthanolamin, doppeldestilliert oder als Hydrochlorid.
2. Oxydiertes Triphosphopyridinnucleotid, ca. 90 %.
3. Magnesiumchlorid, $MgCl_2$.
4. Glucose.
5. Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (Zwischenferment) aus Hefe suspension in 3,3 M. Ammoniumsulfat-Lösung pH= ca. 6.
6. Hexokinase aus Hefe, lyophilisiertes Präparat.
7. Perchlorsäure, Dichte=1,64 ca. 70 % W/v
oder, Dichte=1,53 ca. 60 % W/v
8. Kaliumcarbonat, K_2CO_3 .
9. Methylorange (Indikator-Substanz).

Herstellung der Lösung. (für ca. 20 Bestimmungen)

Alle Lösungen mit frischberitetem doppelt destilliertem Wasser herstellen.

1. Triäthanolamin-Puffer (0,05M! pH 7,5-7,6) ; 4,65 g. Triäthanolamin-hydrochlorid in ca. 200 ml. H_2O Lösen, 11 ml. 1 M. Natronlauge hinzu-

fügen nach Temperieren ad 500 ml.

2. Triphosphopyridinnucleotid, Na-Salz etwa 90% (ca. 3,80 ad 0,75 TPN⁺) : 7,5 mg TPN-NAH₂ (ca. 6 % H₂O) ad 1,5 ml.
3. Magnesiumchlorid (0,1 M.) : 0,95 g. MgCl₂ p. a. ad 100 ml.
4. Glucose (0,5 M.) : 4,95 g. ad 50 ml. 2,475 g. ad 25 ml.
5. Zwischenferment; a.) Je nach spezifische Aktivität 10-15 mg. lyophilisiertes Enzym in 1,0 ml. b.) 200 μ g Enzym/ml; 0,3 ml. der Enzym-kristall-suspension (0,075 mg/ml in 0,3 M. Ammoniumsulfat-Lösung.)
6. Hexokinase (ca. 10-15 mg/ml); Abhängig von der spezifischen Aktivität 20-30 mg lyophilisiertes Enzym im 2,0 ml lösen.
7. Perchlorsäure (ca. 6 % W/v): a.) 7,5 ml HClO₄ p. a. Dichte 1,64 ad 150 ml. b.) 9,1 ml HClO₄ p. a. Dichte 1,53 ad 150 ml.
8. Kaliumcarbonat (ca. 5 M. K₂CO₃) : ca. 72 g. K₂CO₃ p. a. ad 100 ml.
9. Methylorange-Indikator: ca. 50 mg in 100 ml.

Haltbarkeit der Lösung

Alle Lösungen verschlossen im Kühlschrank bei 1-4°C aufbewahren. TPN⁺ und Glucose-Lösungen wöchentlich. Enzymlösungen aus Trockenpulver täglich, mit Wasser verdünnte Enzymkristallsuspensionen alle 2-3 Tage neu ansetzen.

Versuchsanordnung

<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>
0,15 MgCl ₂ = 0,006 Mol Entkonz.	Ansatz 1	Ansatz 1
0,15 Citrat = 0,01 Mol Entkonz.	+3 mg Taur.	+3 mg Tauro.
0,6 C ¹⁴ -acetat = 0,008 Mol ENTkonz.		+30 mg TrP.
3,6 mg. Sup		
Nach 20 Minuten		
<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>
Ansatz 1	Ansatz 1	Ansatz 1
	+3 mg Tauro.	+3 mg Tauro.
		+30 mg TrP.
Nach 40 Minuten		
<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>
Ansatz 1	Ansatz 1	Ansatz 1
	+3 mg Tauro.	+3 mg Tauro.
		+30 mg TrP.
Nach 80 Minuten		

<u>10</u>	<u>11</u>	<u>12</u>
	Ansatz 1	Ansatz 1
Ansatz 1	+3 mg Tauro.	+3 mg Tauro.
	+	+30 mg TrP.
Nach 180 Minuten		
<u>O₁</u>	<u>O₂</u>	<u>O₃</u>
Sup 1, 2	Sup 1, 2	Sup 1, 2
	+ 1 mg Tauro.	+1 mg Tauro.
		+10 mg TrP.
Nach 0 Minuten		

Zusätze:

1 = Sup

2 = Taurocholsäure

3 = Taurocholsäure + Trockenpulver

Ente Weissung

Leberextrat wurde mit Perchlorsäure im Verhältnis 1:1 ente weisst (v/v), 10 Minuten bei 3000 U./Min. bei 2°C abzentrifugiert.

Neutralisation

Die Zentrifugierten Perchlorsäureextrakte sollen nach einem einheitlichen Verfahren zur Neutralisation gebracht werden. Aliquote Mengen von je 2-4 ml. zur Doppelbestimmung mit 5 ml. K_2CO_3 -Lösung gegen Methylorange mittels einer 0,2 ml. -Kapillar -Pipette und magnetischer Rührung bis zum Umschlagepunkt titrieren, oder durch die praktische und noch empfindlichere Endpunkttitration mit einem automatischen Titragraphen auf pH = 7,4 einstellen (Magnetische Rührung, kombinierte Mikroglaselektrode, 10 Sekunden Zeitvorgabe, Proportionalitäts- Baude 3 bzw. 7 pH-Einheiten Gesamtdauer der Titration ca. 15 Minuten. Etwa 0,12-0,15 ml. Carbonat Lösung sind insgesamt erforderlich.

Die Neutralisierte Lösung 10 Minuten im Eiswasser stehen lassen, von sedimentierten $KClO_4$ dekatieren, davon 0,1 bzw. 0,2 ml. zur Messung bringen.

Bestimmungsansatz

Vorbemerkung: Das in der Küvette eingesetzte Testvolumen wird so dimensioniert, daß eine maximale Extinktionsänderung von 0,15 nicht überschritten, das Testeide

somit nach 15 Min. erreicht wird. Man mißt gegen eine Vergleichsküvette mit 4,0 ml. Puffer. Verfahren: Lösung in der angegebenen Reihenfolge in der Küvetten pipettieren:

Meßstrahlung 366 m μ , schichtdicke d= 2cm. Küvetten-endvolumen bei ATP 5,00 ml., bei HMP bzw. G-6-P. 4,53 ml.

Lösungen:

Enteieisste Lösung		0,20 ml.	
Puffer		3,90 ml.	
TPN ⁺		0,06 ml.	
MgCl ₂		0,35 ml.	
ZF-Lsg.	0,02 ml.	5 Min.	E ₂
ZF-Lsg.	0,02 ml.	1 Min.	E ₃
Glucose	0,40 ml.	1/2 Min.	E ₄
HK-Lsg.	0,05 ml.	15 Min.	E ₅
HK-Lsg.	0,05 ml.	1 Min.	E ₆

Anfangsextinktion über 1-3 Minuten ablassen. Die angegebenen Enzymmengen auf einen kleinen Kunststoff-Löffel auftragen und in die Lösung des Versuchs-Küvetten einrühren. Nach der ersten Enzymzugabe von 0,02 ml. ZF-Lsg. die Bewegung der Extinktion über 5 Min. verfolgen und weitere 0,02 ml. ZF in die Küvette einwirbeln. Nach 1 Min. Kontrolle.

Die Extinktionsdifferenz $E_3 - E_2$, also der "Extinktions-Sprung" E_{ZF} den die ZF-Zugabe bewirkt, von der Differenz $E_2 - E_1 = E_{HMP}$ subtrahieren:

Somit ist $(E_2 - E_1) - (E_3 - E_2) = \Delta E_{HMP} - E_{ZF} = \Delta E_{HMP}$ die den HMP bzw. G-6-P gehaltentsprechende Extinktionsdifferenz.

Nach Zugabe von Glucose-Lösung die geringe Extinktions-Abnahme (durch Veränderung der Versuchslösung nicht länger als 30 Sekunden beobachten E_4 : 0,05 ml. HK-Zusatz leiten den ATP-Umsatz ein, er ist in der Norm in ca. 12 Min. beendet. Die Bewegung der Extinktion wird bis zur 15. Minute nach der 1. HK-Zugabe kontrolliert= E_5 . weitere 0,05 ml HK-Lösung dienen der Ermittlung des "HK-Enzym-Sprung" Notierung 1 Minute nach Enzymzugabe= E_6 . $E_6 - E_5 = E_{HK}$ von der Differenz $E_5 - E_4 = E_{ATP}$ subtrahieren: $(E_5 - E_4) - (E_6 - E_5) = E_{ATP} - E_{HK} = E_{ATP}$.

ΔE_{HMP} und ΔE_{ATP} geben in die Berechnung ein.

Berechnung

Die Reaktionen verlaufen unter den angegebenen Bedingungen stochiometrisch, doppelte Mengen an enteiweissten Testlösungen liefern innerhalb der Meßgenauigkeit doppelte ΔE_{HMP} und ΔE_{AZP} .

Der ATP- und HMP- Gehalt läßt sich daran wie folgt berechnen:

Wenn V_k = Endvolumen in der Küvette nach letzter Enzymzugabe.

V_1 = Gewicht (g).

V_2 = V_1 + g(ml) Perchlorsäure zur Enteiweissung.

V_3 = Volumen Perchlorsäure-Extrat vor Neutralisation.

V_4 = V_3 + ml K_2CO_3 -Verbrauch.

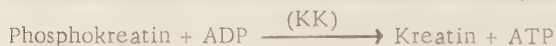
V_5 = Volumen enteiweisster Lösung in der Küvette.

so ist:

$$\frac{\Delta E \cdot V_k \cdot V_2 \cdot V_4}{\sum d \cdot V_1 \cdot V_3 \cdot V_5} = \text{M-ATP/g Organ bzw. ATP/ml Organ}$$

Weitere Bestimmungen

Durch Messung der Extinktionsdifferenz E_{HMP} wird im gleichen Versuchungsansatz, von der Reinheit des verwendeten Zwischenfermentes bestimmt. Hexomonophosphat(HMP) bzw. G-6-P analysiert. Nur mit hochgereinigtem ZF kann man erwarten, auf diese Weise spezifische G-6-P zu erfassen. Mit den handelsüblichen Präparaten erfaßt man den HMP-Gehalt. Nach Ablauf des ATP-Umsatzes ist in der gleichen Küvette nach Zusatz von Kreation-kinase (HK) und ADP eine exakte und spezifisch enzymatische Analyse von Phosphokreatin durchführbar.



Störungen:

1. Fast ausnahmslos lassen sich Störungen auf den Gehalt zu hoher Fremdaktivitäten in Hexokinase oder Zwischenferment zurückführen.
2. In Anwesenheit größerer Mengen an PO_4^{3-} entstehen in der Küvette, oft erst während der Testung, feinkristalline Trübungen von ausfallendem Magnesiumammoniumphosphat (Vorgetäuschte Extinktionszunahme).
3. Mehrere Tage alte, mit Wasser verdünnte Enzymlösungen sind unbrauchbar, sie liefern gänzlich verfälschte Resultate.

Hexokinase: Sie wurde zuerst aus Hefe, später auch aus Gehirn gewonnen. In Muskel und Leber sind die Fermente für die phosphorylierung von Glucose und Fructose verschieden. Reine Hexokinase setzt Glucose, Fructose um.

Hexokinase bedarf der Aktivierung durch Magnesium. Cori und Mitarb. haben beschrieben, daß Hypophysenvorderlappenextrakt eine Hemmkörper der Hexokinase enthalten, dessen Wirkung durch Nebennierenrindenextrakt noch verstärkt, durch kleine Insulinmengen dagegen aufgehoben wird.

Hexokinase in verschiedenen Einheitsgraden im Handel, kann aber nach bewährten Methoden relativ einfach aus Backerhefe dargestellt werden, jedoch sind bei der Kristallisation die Ausbeuten gering.

HK soll eine spezifische Aktivität von mindestens 400 E/mg nach Bücher, entsprechend ca. 50 E/mg nach Berger bzw. ca. 10 E/mg nach Bailey aufweisen.

Eine reibungslose Durchführung des ATP-Testes ist nur möglich, wenn das Präparat weniger als 0,01 % an Myokinase, ATP-asen, Glucose-6-Phosphatasen, 6-Phosphogluconsäure-Dehydrogenase, TPNH-Oxydase, Hexose-Phosphatisomerase, Kreatinase und Gluthathion-reduktase enthält.

Zwischenferment: Gut funktionierende Arbeitsvorschriften zur Isolierung aus Hefe existieren von Kornberg, Glaser, Racker, und Horecker. Die Ausbeuten bei der Darstellung schwanken, sie sind relativ klein. Nach den Methoden von Kornberg und Horecker dargestellte Präparationen enthalten hohe Fremdaktivitäten an TPNH-Oxydase und GSSG-Reduktase (ca. 10 %).

Frunder fanden ein Verfahren zur Abtrennung von GSSG-Reduktase. Bezogen auf E/mg sollen die bei Hexokinase angegebenen Mengen Fremdaktivität nicht überschritten werden, der HK-Gehalt in Zwischenferment darf nicht über 0,2 % sein.

Zur ATP-Bestimmung soll ZF eine spezifische Aktivität von mindestens 4000 E/mg nach Bücher, entsprechend ca. 70 E/mg nach Racker aufweisen.

ERGEBNIS

Im Folgenden habe ich aus meinen zahlreichen Tests die ausgewählt, die ein eindeutiges Resultat erzielten. Gerade diese positiven Ergebnisse möchte ich besonders ausführen.

Der ATP-Gehalt mit der Höhe der Fettsäure-Synthese wurde bei jedem Versuch gleichwertig bestimmt.

Versuch 884

Bei diesem Versuch wurden drei verschiedene Gemische getestet:

Die Lösung 1 ist Sup-.

Bei Gemisch 2 fügt man dem Sup 15 mg Caprylsäure hinzu.

Das Gemisch 3 besteht aus 30 mg Trockenpulver 1 und 15 mg Caprylsäure.

ATP

Zu- satz	Nullwert	nach 20 Minuten	nach 40 Minuten	nach 80 Minuten	nach 180 Minuten	γ /ml
1	182,6	56,56	52,39	8,542	8,693	γ /ml
2	195,8	43,58	21,79	4,350	0	γ /ml
3	174,3	152,1	120,4	30,48	30,51	γ /ml

G -6 -P

Zu- satz	Nullwert	nach 20 Minuten	nach 40 Minuten	nach 80 Minuten	nach 180 Minuten	γ /ml
1	38,17	6,033	2,018	0	0	γ /ml
2	40,22	4,029	2,014	0	0	γ /ml
3	38,28	84,38	58,42	28,18	24,17	γ /ml

Fettsäure

Zu- satz	Nullwert	nach 20 Minuten	nach 40 Minuten	nach 80 Minuten	nach 180 Minuten	Imp./Mi.
1	0	2510	2950	3010	2550	Imp./Mi.
2	0	810	430	244	200	Imp./Mi.
3	0	515	510	470	405	Imp./Mi.

Bei Caprylsäure-uratz zeigen sich keine bemerkenswerten Ergebnisse sowohl bei ATP als auch G-6-P. Nur bei Fettsäuresynthese tritt nach 20 Minuten eine ganz kleine Steigerung auf. Sonst nähert sie sich dem Nullwert.

Jedoch beim 3. Zusatz fällt der Wert bei ATP nicht konstant wie beim 1. und 2., sondern es tritt eine Verminderung bis 80 Minuten ein, fällt der Wert auf 28,17 γ /ml bis 180 Minuten stehen.

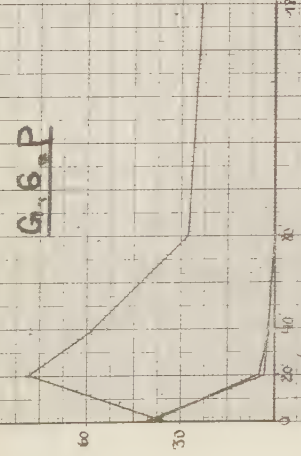
Bei G-6-P zeigt auch nach 20 Minuten ein bemerkenswerter Anschlag, denn der Wert steigt sprunghaft auf 84,38 γ /ml an, fällt nun stetig bis 80 Minuten auf 28,18 γ /ml und bleibt dann bis 180 auf 24,14 γ /ml stehen.

Vers. Nr. 884(43 Testreihe)

Kultursäße: 1 SUP 300 my T.P. 15 my 1000
Caprylsäure

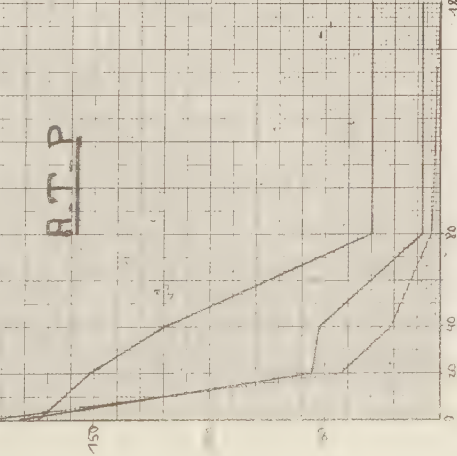
G₁ G₂ P

δ G₁ G₂ P/ml



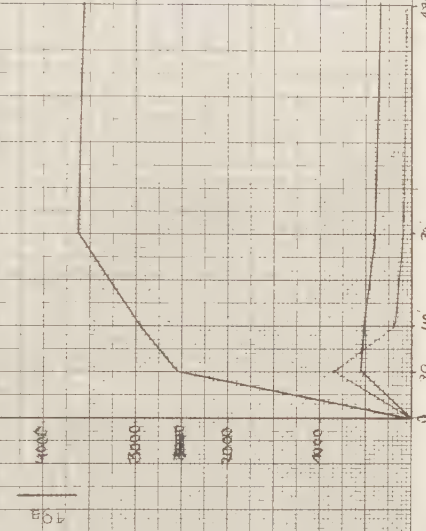
A.T.P

δ A.T.P./ml



Fettsynthese

δ P



120 minute

Die Fettsäure dagegen Anstieg zum konstanten Wert.

So sieht man daraus, daß beim Zusatz, wo Caprylsäure und Trockenpulver beisammen sind, die Werte nicht zum Nullwert absinken, wie ohne das Trockenpulver.

Versuch 868

Bei diesem Versuch wurden drei verschiedene Gemische getestet:

Die Lösung 1 ist Sup.

Bei Gemisch 2 fügt man dem Sup 3 mg Taurocholsäure hinzu.

Das Gemisch 3 besteht aus Gemisch 2 und 30 mg Trockenpulver.

A T P

Zu- satz	Nullwert	nach 20 Minuten	nach 40 Minuten	nach 80 Minuten	nach 180 Minuten	δ /ml
1	169,1	109,1	100,1	21,7	13,0	δ /ml
2	239,6	174,2	52,2	13,0	0	δ /ml
3	195,7	156,8	173,9	78,2	52,2	δ /ml

G-6-P

Zu- satz	Nullwert	nach 20 Minuten	nach 40 Minuten	nach 80 Minuten	nach 180 Minuten	δ /ml
1	26,2	6,0	2,01	2,01	0	δ /ml
2	26,2	6,03	0	0	0	δ /ml
3	26,2	4,03	70,3	16,1	70,3	δ /ml

Fettsäure

Zu- satz	Nullwert	nach 20 Minuten	nach 40 Minuten	nach 80 Minuten	nach 180 Minuten	Imp/Min
1	0	1260	1330	2580	2540	Imp/Mi.
2	0	160	198	157	189	Imp/Min
3	0	162	239	220	292	Imp/Mi.

Bei Taurocholsäure allein (2. Zusatz) fällt der ATP-Wert stufenförmig ab. Die Kurve bei G-6-P verläuft wie bei den entsprechenden Versuchen ohne Zusatz. Jedoch bei Gemisch 3 (Taurocholsäure und Trockenpulver) steigt der Wert bei ATP und G-6-P nach anfänglichem Fallen wieder an und erreicht nach 40 Minuten den Höhepunkt.

Bei G-6-P ist dieser Ausschlag besonders groß. Bis 80 Minuten sinken beide Kurven. Nach 180 Minuten bleibt überraschend bei ATP der Wert auf 52,2 μ /ml stehen. Noch überraschender war der Versuch bei G-6-P, denn hier stieg ab 80 Minuten sogar 70,8 μ /ml. Es trat eine Forderung sowohl bei ATP, als auch bei G-6-P auf. Hervorzuheben bei Kombination Nr. 3, daß trotz vermehrtem ATP- und G-6-P-Gehaltes eine Hemmung der Fettsäuresynthese durch Taurocholsäure und Trockenpulverzusatz nicht aufgehoben wird.

Versuch 886

Bei diesem Versuch wurden drei verschiedene Gemische getestet:

Die Lösung 1 ist Sup.

Bei Gemisch 2 fügt man dem Sup 7,5 mg Essigsäure pH=4,6 die in 0,15 ml Wasser gelöst ist, hinzu.

Das Gemisch 3 besteht aus der Essigsäure wie bei 2 und einem Faktor von 30 mg.

ATP

Zu- satz	Nullwert	nach 20 Minuten	nach 40 Minuten	nach 80 Minuten	nach 180 Minuten	μ /ml
1	174	59,62	87,09	8,716	4,358	μ /ml
2	169,7	100,2	8,709	8,709	0	μ /ml
3	169,7	0	117,4	13,05	0	μ /ml

G - 6 - P

Zu- satz	Nullwert	nach 20 Minuten	nach 40 Minuten	nach 80 Minuten	nach 180 Minuten	μ /ml
1	52,28	8,036	18,11	4,029	6,043	μ /ml
2	54,29	100,6	0	2,013	2,013	μ /ml
3	56,31	225,2	156,7	16,09	2,014	μ /ml

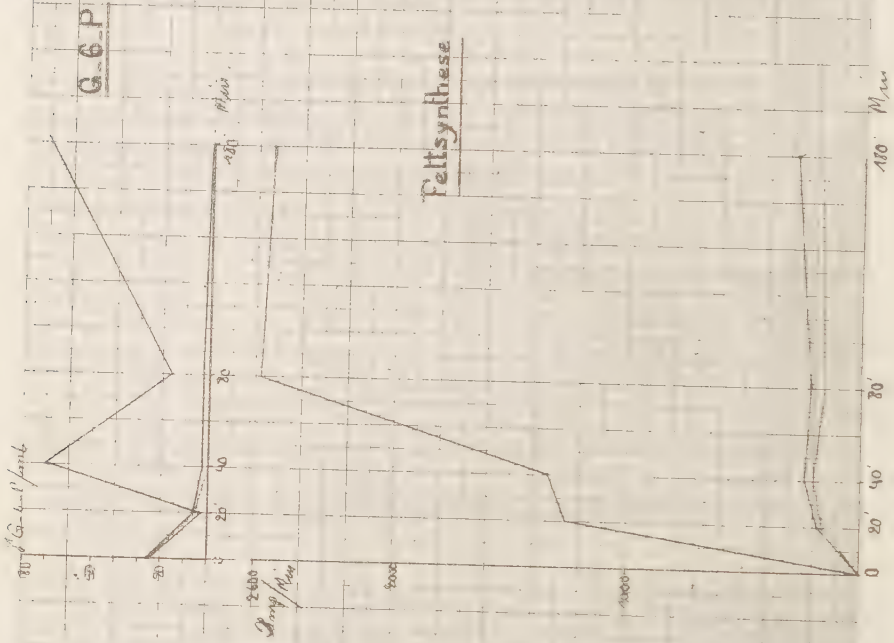
Vers. 868 (38 Testreihe)

Kussäge 1.500
 3. Takt + 1. P
 3 mg wss + 10 mg

A-T-P



Fettsynthese



Fettsäure

Zu- satz	Nullwert	nach 20 Minuten	nach 40 Minuten	nach 80 Minuten	nach 180 Minuten	Imp/Mi.
1	O	1830	3260	3260	4200	Imp/Mi.
2	O	469	665	685	785	Imp/Mi.
3	O	375	650	655	725	Imp/Mi.

Wie man aus der Tabelle und der graphischen Darstellung ersieht, zeigt sich beim A-Zusatz der weitaus größte Ausschlag bei A-P nach 40 Minuten und bei G-6-P nach 20 Minuten. Dieser letztere enorme Ausschlag bei G-6-P nach 20 Minuten war völlig unerwartet. Sodann fällt bei beiden die Kurve bis 40 Minuten zunächst rasch und gleicht sich dann langsam dem Nullwert an. Gibt man Essigsäure allein hinzu, so fällt der ATP-Wert bis 40 Minuten schnell und sinkt anschließend bis zum Nullwert ab. Bei G-6-P erfolgt nach 20 Minuten ein kleiner Ausschlag. Jedoch nach 40 Minuten ist der Nullwert erreicht.

Daraus ergibt sich, daß die Essigsäure am ATP-Spiegel hemmend beeinflußt, bei G-6-P dagegen nach 20 Minuten eine Förderung hervorruft. Bei der Fettsäure laufen die Kurven bei der 2. und 3. Zusatz fast parallel und zeigen trotz Anstieg der ATP- und G-6-P-Gehaltes, starke Hemmung der Fettsäure-Synthese.

Versuch 863

Die Lösung 1 ist SUP.

Bei Gemisch 2 fügt man dem Sup 15 mg Nicotinsäureamid hinzu.

Das Gemisch 3 besteht aus 45 mg Nicotinsäureamid.

ATP

Zu- satz	Nullwert	nach 20 Minuten	nach 40 Minuten	nach 80 Minuten	nach 180 Minuten	/ml
1	222,1	95,88	78,48	13,07	17,40	/ml
2	230,6	60,91	161,0	26,10	O	/ml
3	217,7	82,66	126,4	34,83	O	/ml

Vers. Nr. 886 (44 Testreihe)

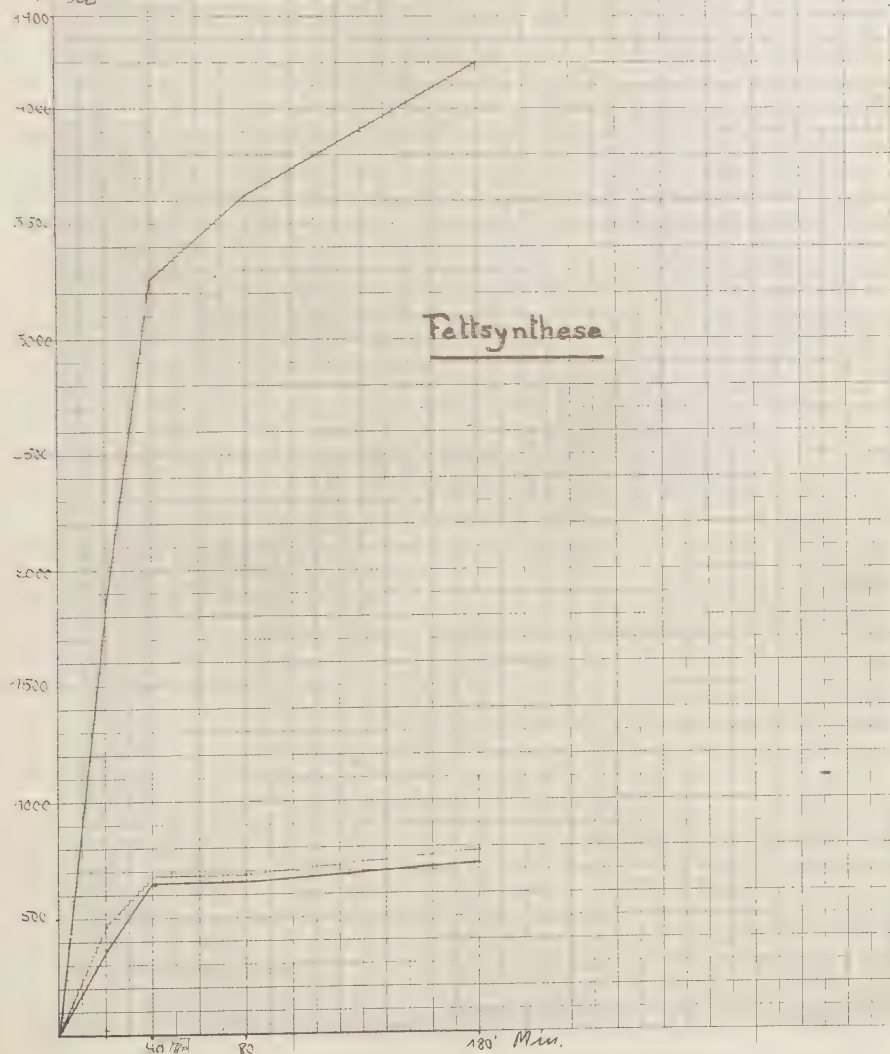
1. SUP 2. Essigs. + Fokl.
 Zusatz: Pkt. 6/6
 444
 1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 13. 14. 15. 16. 17. 18. 19. 20. 21. 22. 23. 24. 25. 26. 27. 28. 29. 30. 31. 32. 33. 34. 35. 36. 37. 38. 39. 40. 41. 42. 43. 44. 45. 46. 47. 48. 49. 50. 51. 52. 53. 54. 55. 56. 57. 58. 59. 60. 61. 62. 63. 64. 65. 66. 67. 68. 69. 70. 71. 72. 73. 74. 75. 76. 77. 78. 79. 80. 81. 82. 83. 84. 85. 86. 87. 88. 89. 90. 91. 92. 93. 94. 95. 96. 97. 98. 99. 100. 101. 102. 103. 104. 105. 106. 107. 108. 109. 110. 111. 112. 113. 114. 115. 116. 117. 118. 119. 120. 121. 122. 123. 124. 125. 126. 127. 128. 129. 130. 131. 132. 133. 134. 135. 136. 137. 138. 139. 140. 141. 142. 143. 144. 145. 146. 147. 148. 149. 150. 151. 152. 153. 154. 155. 156. 157. 158. 159. 160. 161. 162. 163. 164. 165. 166. 167. 168. 169. 170. 171. 172. 173. 174. 175. 176. 177. 178. 179. 180. 181. 182. 183. 184. 185. 186. 187. 188. 189. 190. 191. 192. 193. 194. 195. 196. 197. 198. 199. 200. 201. 202. 203. 204. 205. 206. 207. 208. 209. 210. 211. 212. 213. 214. 215. 216. 217. 218. 219. 220. 221. 222. 223. 224. 225. 226. 227. 228. 229. 230. 231. 232. 233. 234. 235. 236. 237. 238. 239. 240. 241. 242. 243. 244. 245. 246. 247. 248. 249. 250. 251. 252. 253. 254. 255. 256. 257. 258. 259. 260. 261. 262. 263. 264. 265. 266. 267. 268. 269. 270. 271. 272. 273. 274. 275. 276. 277. 278. 279. 280. 281. 282. 283. 284. 285. 286. 287. 288. 289. 290. 291. 292. 293. 294. 295. 296. 297. 298. 299. 300. 301. 302. 303. 304. 305. 306. 307. 308. 309. 310. 311. 312. 313. 314. 315. 316. 317. 318. 319. 320. 321. 322. 323. 324. 325. 326. 327. 328. 329. 330. 331. 332. 333. 334. 335. 336. 337. 338. 339. 340. 341. 342. 343. 344. 345. 346. 347. 348. 349. 350. 351. 352. 353. 354. 355. 356. 357. 358. 359. 360. 361. 362. 363. 364. 365. 366. 367. 368. 369. 370. 371. 372. 373. 374. 375. 376. 377. 378. 379. 380. 381. 382. 383. 384. 385. 386. 387. 388. 389. 390. 391. 392. 393. 394. 395. 396. 397. 398. 399. 400. 401. 402. 403. 404. 405. 406. 407. 408. 409. 410. 411. 412. 413. 414. 415. 416. 417. 418. 419. 420. 421. 422. 423. 424. 425. 426. 427. 428. 429. 430. 431. 432. 433. 434. 435. 436. 437. 438. 439. 440. 441. 442. 443. 444. 445. 446. 447. 448. 449. 450. 451. 452. 453. 454. 455. 456. 457. 458. 459. 460. 461. 462. 463. 464. 465. 466. 467. 468. 469. 470. 471. 472. 473. 474. 475. 476. 477. 478. 479. 480. 481. 482. 483. 484. 485. 486. 487. 488. 489. 490. 491. 492. 493. 494. 495. 496. 497. 498. 499. 500. 501. 502. 503. 504. 505. 506. 507. 508. 509. 510. 511. 512. 513. 514. 515. 516. 517. 518. 519. 520. 521. 522. 523. 524. 525. 526. 527. 528. 529. 530. 531. 532. 533. 534. 535. 536. 537. 538. 539. 540. 541. 542. 543. 544. 545. 546. 547. 548. 549. 550. 551. 552. 553. 554. 555. 556. 557. 558. 559. 560. 561. 562. 563. 564. 565. 566. 567. 568. 569. 570. 571. 572. 573. 574. 575. 576. 577. 578. 579. 580. 581. 582. 583. 584. 585. 586. 587. 588. 589. 590. 591. 592. 593. 594. 595. 596. 597. 598. 599. 600. 601. 602. 603. 604. 605. 606. 607. 608. 609. 610. 611. 612. 613. 614. 615. 616. 617. 618. 619. 620. 621. 622. 623. 624. 625. 626. 627. 628. 629. 630. 631. 632. 633. 634. 635. 636. 637. 638. 639. 640. 641. 642. 643. 644. 645. 646. 647. 648. 649. 650. 651. 652. 653. 654. 655. 656. 657. 658. 659. 660. 661. 662. 663. 664. 665. 666. 667. 668. 669. 670. 671. 672. 673. 674. 675. 676. 677. 678. 679. 680. 681. 682. 683. 684. 685. 686. 687. 688. 689. 690. 691. 692. 693. 694. 695. 696. 697. 698. 699. 700. 701. 702. 703. 704. 705. 706. 707. 708. 709. 710. 711. 712. 713. 714. 715. 716. 717. 718. 719. 720. 721. 722. 723. 724. 725. 726. 727. 728. 729. 730. 731. 732. 733. 734. 735. 736. 737. 738. 739. 740. 741. 742. 743. 744. 745. 746. 747. 748. 749. 750. 751. 752. 753. 754. 755. 756. 757. 758. 759. 760. 761. 762. 763. 764. 765. 766. 767. 768. 769. 770. 771. 772. 773. 774. 775. 776. 777. 778. 779. 780. 781. 782. 783. 784. 785. 786. 787. 788. 789. 790. 791. 792. 793. 794. 795. 796. 797. 798. 799. 800. 801. 802. 803. 804. 805. 806. 807. 808. 809. 810. 811. 812. 813. 814. 815. 816. 817. 818. 819. 820. 821. 822. 823. 824. 825. 826. 827. 828. 829. 830. 831. 832. 833. 834. 835. 836. 837. 838. 839. 840. 841. 842. 843. 844. 845. 846. 847. 848. 849. 850. 851. 852. 853. 854. 855. 856. 857. 858. 859. 860. 861. 862. 863. 864. 865. 866. 867. 868. 869. 870. 871. 872. 873. 874. 875. 876. 877. 878. 879. 880. 881. 882. 883. 884. 885. 886. 887. 888. 889. 890. 891. 892. 893. 894. 895. 896. 897. 898. 899. 900. 901. 902. 903. 904. 905. 906. 907. 908. 909. 910. 911. 912. 913. 914. 915. 916. 917. 918. 919. 920. 921. 922. 923. 924. 925. 926. 927. 928. 929. 930. 931. 932. 933. 934. 935. 936. 937. 938. 939. 940. 941. 942. 943. 944. 945. 946. 947. 948. 949. 950. 951. 952. 953. 954. 955. 956. 957. 958. 959. 960. 961. 962. 963. 964. 965. 966. 967. 968. 969. 970. 971. 972. 973. 974. 975. 976. 977. 978. 979. 980. 981. 982. 983. 984. 985. 986. 987. 988. 989. 990. 991. 992. 993. 994. 995. 996. 997. 998. 999. 1000. 1001. 1002. 1003. 1004. 1005. 1006. 1007. 1008. 1009. 1010. 1011. 1012. 1013. 1014. 1015. 1016. 1017. 1018. 1019. 1020. 1021. 1022. 1023. 1024. 1025. 1026. 1027. 1028. 1029. 1030. 1031. 1032. 1033. 1034. 1035. 1036. 1037. 1038. 1039. 1040. 1041. 1042. 1043. 1044. 1045. 1046. 1047. 1048. 1049. 1050. 1051. 1052. 1053. 1054. 1055. 1056. 1057. 1058. 1059. 1060. 1061. 1062. 1063. 1064. 1065. 1066. 1067. 1068. 1069. 1070. 1071. 1072. 1073. 1074. 1075. 1076. 1077. 1078. 1079. 1080. 1081. 1082. 1083. 1084. 1085. 1086. 1087. 1088. 1089. 1090. 1091. 1092. 1093. 1094. 1095. 1096. 1097. 1098. 1099. 1100. 1101. 1102. 1103. 1104. 1105. 1106. 1107. 1108. 1109. 1110. 1111. 1112. 1113. 1114. 1115. 1116. 1117. 1118. 1119. 1120. 1121. 1122. 1123. 1124. 1125. 1126. 1127. 1128. 1129. 1130. 1131. 1132. 1133. 1134. 1135. 1136. 1137. 1138. 1139. 1140. 1141. 1142. 1143. 1144. 1145. 1146. 1147. 1148. 1149. 1150. 1151. 1152. 1153. 1154. 1155. 1156. 1157. 1158. 1159. 1160. 1161. 1162. 1163. 1164. 1165. 1166. 1167. 1168. 1169. 1170. 1171. 1172. 1173. 1174. 1175. 1176. 1177. 1178. 1179. 1180. 1181. 1182. 1183. 1184. 1185. 1186. 1187. 1188. 1189. 1190. 1191. 1192. 1193. 1194. 1195. 1196. 1197. 1198. 1199. 1200. 1201. 1202. 1203. 1204. 1205. 1206. 1207. 1208. 1209. 1210. 1211. 1212. 1213. 1214. 1215. 1216. 1217. 1218. 1219. 1220. 1221. 1222. 1223. 1224. 1225. 1226. 1227. 1228. 1229. 1230. 1231. 1232. 1233. 1234. 1235. 1236. 1237. 1238. 1239. 1240. 1241. 1242. 1243. 1244. 1245. 1246. 1247. 1248. 1249. 1250. 1251. 1252. 1253. 1254. 1255. 1256. 1257. 1258. 1259. 1260. 1261. 1262. 1263. 1264. 1265. 1266. 1267. 1268. 1269. 1270. 1271. 1272. 1273. 1274. 1275. 1276. 1277. 1278. 1279. 1280. 1281. 1282. 1283. 1284. 1285. 1286. 1287. 1288. 1289. 1290. 1291. 1292. 1293. 1294. 1295. 1296. 1297. 1298. 1299. 1300. 1301. 1302. 1303. 1304. 1305. 1306. 1307. 1308. 1309. 1310. 1311. 1312. 1313. 1314. 1315. 1316. 1317. 1318. 1319. 1320. 1321. 1322. 1323. 1324. 1325. 1326. 1327. 1328. 1329. 1330. 1331. 1332. 1333. 1334. 1335. 1336. 1337. 1338. 1339. 1340. 1341. 1342. 1343. 1344. 1345. 1346. 1347. 1348. 1349. 1350. 1351. 1352. 1353. 1354. 1355. 1356. 1357. 1358. 1359. 1360. 1361. 1362. 1363. 1364. 1365. 1366. 1367. 1368. 1369. 1370. 1371. 1372. 1373. 1374. 1375. 1376. 1377. 1378. 1379. 1380. 1381. 1382. 1383. 1384. 1385. 1386. 1387. 1388. 1389. 1390. 1391. 1392. 1393. 1394. 1395. 1396. 1397. 1398. 1399. 1400. 1401. 1402. 1403. 1404. 1405. 1406. 1407. 1408. 1409. 1410. 1411. 1412. 1413. 1414. 1415. 1416. 1417. 1418. 1419. 1420. 1421. 1422. 1423. 1424. 1425. 1426. 1427. 1428. 1429. 1430. 1431. 1432. 1433. 1434. 1435. 1436. 1437. 1438. 1439. 1440. 1441. 1442. 1443. 1444. 1445. 1446. 1447. 1448. 1449. 1450. 1451. 1452. 1453. 1454. 1455. 1456. 1457. 1458. 1459. 1460. 1461. 1462. 1463. 1464. 1465. 1466. 1467. 1468. 1469. 1470. 1471. 1472. 1473. 1474. 1475. 1476. 1477. 1478. 1479. 1480. 1481. 1482. 1483. 1484. 1485. 1486. 1487. 1488. 1489. 1490. 1491. 1492. 1493. 1494. 1495. 1496. 1497. 1498. 1499. 1500. 1501. 1502. 1503. 1504. 1505. 1506. 1507. 1508. 1509. 1510. 1511. 1512. 1513. 1514. 1515. 1516. 1517. 1518. 1519. 1520. 1521. 1522. 1523. 1524. 1525. 1526. 1527. 1528. 1529. 1530. 1531. 1532. 1533. 1534. 1535. 1536. 1537. 1538. 1539. 1540. 1541. 1542. 1543. 1544. 1545. 1546. 1547. 1548. 1549. 1550. 1551. 1552. 1553. 1554. 1555. 1556. 1557. 1558. 1559. 1560. 1561. 1562. 1563. 1564. 1565. 1566. 1567. 1568. 1569. 1570. 1571. 1572. 1573. 1574. 1575. 1576. 1577. 1578. 1579. 1580. 1581. 1582. 1583. 1584. 1585. 1586. 1587. 1588. 1589. 1590. 1591. 1592. 1593. 1594. 1595. 1596. 1597. 1598. 1599. 1600. 1601. 1602. 1603. 1604. 1605. 1606. 1607. 1608. 1609. 1610. 1611. 1612. 1613. 1614. 1615. 1616. 1617. 1618. 1619. 1620. 1621. 1622. 1623. 1624. 1625. 1626. 1627. 1628. 1629. 1630. 1631. 1632. 1633. 1634. 1635. 1636. 1637. 1638. 1639. 1640. 1641. 1642. 1643. 1644. 1645. 1646. 1647. 1648. 1649. 1650. 1651. 1652. 1653. 1654. 1655. 1656. 1657. 1658. 1659. 1660. 1661. 1662. 1663. 1664. 1665. 1666. 1667. 1668. 1669. 1670. 1671. 1672. 1673. 1674. 1675. 1676. 1677. 1678. 1679. 1680. 1681. 1682. 1683. 1684. 1685. 1686. 1687. 1688. 1689. 1690. 1691. 1692. 1693. 1694. 1695. 1696. 1697. 1698. 1699. 1700. 1701. 1702. 1703. 1704. 1705. 1706. 1707. 1708. 1709. 1710. 1711. 1712. 1713. 1714. 1715. 1716. 1717. 1718. 1719. 1720. 1721. 1722. 1723. 1724. 1725. 1726. 1727. 1728. 1729. 1730. 1731. 1732. 1733. 1734. 1735. 1736. 1737. 1738. 1739. 1740. 1741. 1742. 1743. 1744. 1745. 1746. 1747. 1748. 1749. 1750. 1751. 1752. 1753. 1754. 1755. 1756. 1757. 1758. 1759. 1760. 1761. 1762. 1763. 1764. 1765. 1766. 1767. 1768. 1769. 1770. 1771. 1772. 1773. 1774. 1775. 1776. 1777. 1778. 1779. 1780. 1781. 1782. 1783. 1784. 1785. 1786. 1787. 1788. 1789. 1790. 1791. 1792. 1793. 1794. 1795. 1796. 1797. 1798. 1799. 1800. 1801. 1802. 1803. 1804. 1805. 1806. 1807. 1808. 1809. 1810. 1811. 1812. 1813. 1814. 1815. 1816. 1817. 1818. 1819. 1820. 1821. 1822. 1823. 1824. 1825. 1826. 1827. 1828. 1829. 1830. 1831. 1832. 1833. 1834. 1835. 1836. 1837. 1838. 1839. 1840. 1841. 1842. 1843. 1844. 1845. 1846. 1847. 1848. 1849. 1850. 1851. 1852. 1853. 1854. 1855. 1856. 1857. 1858. 1859. 1860. 1861. 1862. 1863. 1864. 1865. 1866. 1867. 1868. 1869. 1870. 1871. 1872. 1873. 1874. 1875. 1876. 1877. 1878. 1879. 1880. 1881. 1882. 1883. 1884. 1885. 1886. 1887. 1888. 1889. 1890. 1891. 1892. 1893. 1894. 1895. 1896. 1897. 1898. 1899. 1900. 1901. 1902. 1903. 1904. 1905. 1906. 1907. 1908. 1909. 1910. 1911. 1912. 1913. 1914. 1915. 1916. 1917. 1918. 1919. 1920. 1921. 1922. 1923. 1924. 1925. 1926. 1927. 1928. 1929. 1930. 1931. 1932. 1933. 1934. 1935. 1936. 1937. 1938. 1939. 1940. 1941. 1942. 1943. 1944. 1945. 1946. 1947. 1948. 1949. 1950. 1951. 1952. 1953. 1954. 1955. 1956. 1957. 1958. 1959. 1960. 1961. 1962. 1963. 1964. 1965. 1966. 1967. 1968. 1969. 1970. 1971. 1972. 1973. 1974. 1975. 1976. 1977. 1978. 1979. 1980. 1981. 1982. 1983. 1984. 1985. 1986. 1987. 1988. 1989. 1990. 1991. 1992. 1993. 1994. 1995. 1996. 1997. 1998. 1999. 2000. 2001. 2002. 2003. 2004. 2005. 2006. 2007. 2008. 2009. 2010. 2011. 2012. 2013. 2014. 2015. 2016. 2017. 2018. 2019. 2020. 2021. 2022. 2023. 2024. 2025. 2026. 2027. 2028. 2029. 2030. 2031. 2032. 2033. 2034. 2035. 2036. 2037. 2038. 2039. 2040. 2041. 2042. 2043. 2044. 2045. 2046. 2047. 2048. 2049. 2050. 2051. 2052. 2053. 2054. 2055. 2056. 2057. 2058. 2059. 2060. 2061. 2062. 2063. 2064. 2065. 2066. 2067. 2068. 2069. 2070. 2071. 2072. 2073. 2074. 2075. 2076. 2077. 2078. 2079. 2080. 2081. 2082. 2083. 2084. 2085. 2086. 2087. 2088. 2089. 2090. 2091. 2092. 2093. 2094. 2095. 2096. 2097. 2098. 2099. 2100. 2101. 2102. 2103. 2104. 2105. 2106. 2107. 2108. 2109. 2110. 2111. 2112. 2113. 2114. 2115. 2116. 2117. 2118. 2119. 2120. 2121. 2122. 2123. 2124. 2125. 2126. 2127. 2128. 2129. 2130. 2131. 2132. 2133. 2134. 2135. 2136. 2137. 2138. 2139. 2140. 2141. 2142. 2143. 2144. 2145. 2146. 2147. 2148. 2149. 2150. 2151. 2152. 2153. 2154. 2155. 2156. 2157. 2158. 2159. 2160. 2161. 2162. 2163. 2164. 2165. 2166. 2167. 2168. 2169. 2170. 2171. 2172. 2173. 2174. 2175. 2176. 2177. 2178. 2179. 2180. 2181. 2182. 2183. 2184. 2185. 2186. 2187. 2188. 2189. 2190. 2191. 2192. 2193. 2194. 2195. 2196. 2197. 2198. 2199. 2200. 2201. 2202. 2203. 2204. 2205. 2206. 2207. 2208. 2209. 2210. 2211. 2212. 2213. 2214. 2215. 2216. 2217. 2218. 2219. 2220. 2221. 2222. 22

• 280

Vers. Nr. 886 (Testreihe 44)

Einsätze 1. SUP 2. Essigsäure 3. Essigs. + Fukt.

Empfänger



G -6 -P

| Zu-
satz | Nullwert | nach 20
Minuten | nach 40
Minuten | nach 80
Minuten | nach 180
Minuten | μ /ml |
|-------------|----------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|-----------|
| 1 | 52,30 | 16,12 | 6,043 | 2,014 | O | μ /ml |
| 2 | 50,27 | 4,022 | 28,15 | 3,011 | O | μ /ml |
| 3 | 42,27 | 4,022 | 14,10 | 4,025 | O | μ /ml |

Fettsäure

| Zu-
satz | Nullwert | nach 20
Minuten | nach 40
Minuten | nach 80
Minuten | nach 180
Minuten | Imp/Mi. |
|-------------|----------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------|
| 1 | O | 2640 | 3700 | 4560 | 4560 | Imp/Mi. |
| 2 | O | 1000 | 1870 | 3160 | 1320 | Imp/Mi. |
| 3 | O | 420 | 838 | 1410 | 3630 | Imp/Mi. |

Wie man aus den Kurven und Tabellen ersieht, gibt es sowohl bei ATP als auch G-6-P nach 40 Minuten beim 2. und 3. Zusatz einen Anstieg. Jedoch ist dieser beim 2. Zusatz von 15 mg. Nicotinsäureamid größer, als bei 45 mg. Zusatz.

Versuch 881

Bei diesem Versuch wurden drei verschiedene Gemische getestet:

Die Lösung 1 ist Sup.

Bei Gemisch 2 fügt man den Sup 30 mg. Trockenpulver I hinzu.

Das Gemisch 3 besteht aus Sup und 30 mg. Trockenpulver II

A T P

| Zu-
satz | Nullwert | nach 20
Minuten | nach 40
Minuten | nach 80
Minuten | nach 180
Minuten | μ /ml |
|-------------|----------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|-----------|
| 1 | 191,4 | 169,8 | 30,51 | 13,04 | 4,358 | μ /ml |
| 2 | 195,6 | 161,0 | 26,13 | 65,20 | O | μ /ml |
| 3 | 204,3 | 87,16 | 152,3 | 30,48 | O | μ /ml |

Vers. Nr. 863 (36 Testreihe)

1. Sub 2/15 mg Nicotinsäureamid 3/15 mg NR

Testreihe

ATP/ml

250

500

ATP

ATP

ATP 6-P/ml

G-6-P

Min

Fettsynthese

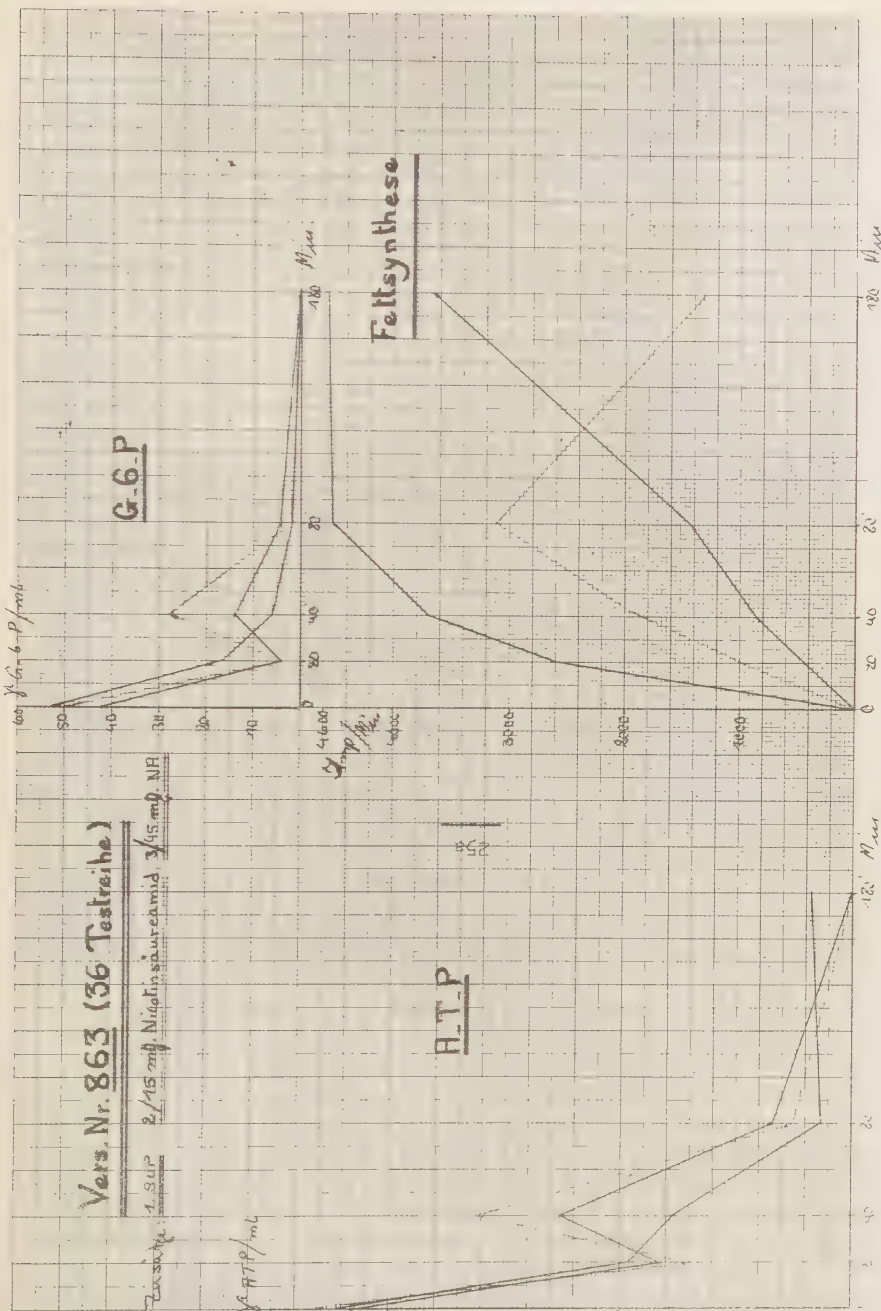
Min

20

40

Min

180



G -6 -P

| Zu-
satz | Nullwert | nach 20
Minuten | nach 40
Minuten | nach 80
Minuten | nach 180
Minuten | γ /ml |
|-------------|----------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------|
| 1 | 12,06 | 14,09 | 6,043 | 2,009 | 0 | γ /ml |
| 2 | 14,06 | 14,08 | 4,025 | 6,027 | 0 | γ /ml |
| 3 | 14,06 | 10,01 | 96,52 | 6,038 | 0 | γ /ml |

Fettsäure

| Zu-
satz | Nullwert | nach 20
Minuten | nach 40
Minuten | nach 80
Minuten | nach 180
Minuten | Imp/Mi. |
|-------------|----------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------|
| 1 | 0 | 3110 | 3780 | 2240 | 2760 | Imp/Mi. |
| 2 | 0 | 2620 | 3420 | 5580 | 6450 | Imp/Mi. |
| 3 | 0 | 2340 | 3920 | 5750 | 6720 | Imp/Mi. |

Wie man aus den graphischen Zeichnungen und aus den Zusammenstellungen er-
sieht, verläuft in dem Versuch bei Sup-pur die Kurve normal, also ohne Ausschlag.

Beim Zusatz von TrP_1 dagegen sinkt der Wert bei ATP schnell innerhalb 40 Minu-
ten auf 26,13 γ /ml ab. Nach 80 Minuten gibt es eine Steigerung auf 65,20 γ /ml.
Anschließend fällt er zum Nullwert ab. Bei G-6-P tritt kein bedeutsamer Ausschlag
auf. Die Kurve bei ATP zeigt ein jähes Absinken bis 20 Minuten, jedoch bei
40 Minuten einen großen Ausschlag, wobei der Wert auf 65,20 γ /ml ansteigt. Nun
sinkt er wieder konstant zum Nullwert. Auch bei G-6-P gibt es nach 40 Minuten
einen großen Ausschlag. Bei der Fettsäure verlaufen beim 2. und 3. Zusatz die
Kurven ziemlich parallel, jedoch steigen die Impulse pro Minute sogar auf 6720 an.

Vars. Nr. 881 (42 Testreihe)

Zusatz: 1 SUP
= 3,6

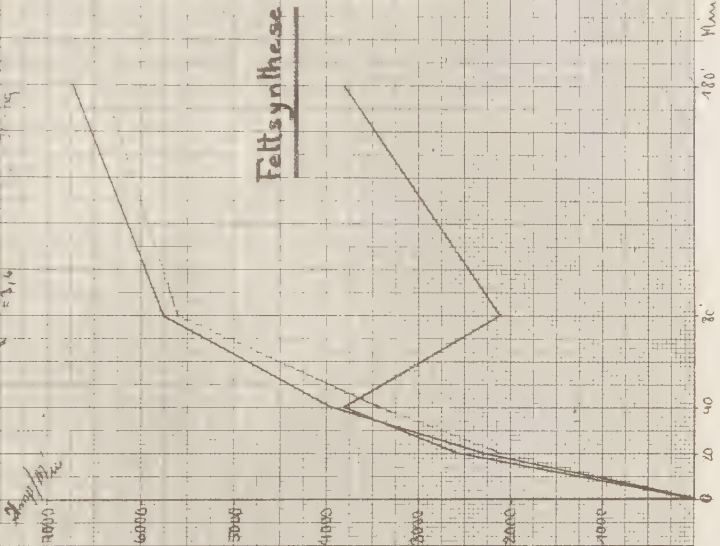
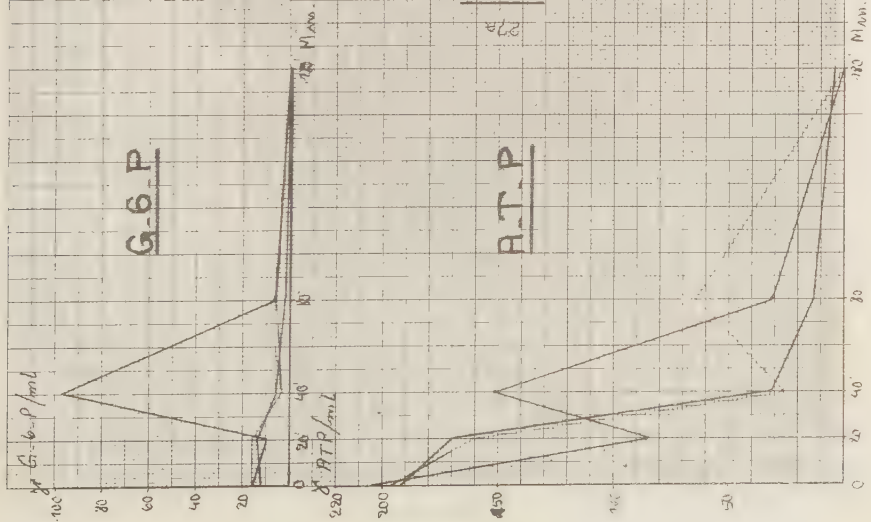
五、

2000

Fettsynthese

உ
ம
கு

卷之四



Versuch 878

Die Lösung 1 ist SUP.

Bei Gemisch 2 fügt man dem SUP 3 mg. Taurocholsäure hinzu.

Das Gemisch 3 besteht aus Gemisch 2 und 10 mg. Trockenpulver.

A T P

| Zu-
satz | Nullwert | nach 20
Minuten | nach 40
Minuten | nach 80
Minuten | nach 180
Minuten | g/ml |
|-------------|----------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|------|
| 1 | 183,0 | 52,35 | 21,77 | 21,75 | 8,701 | g/ml |
| 2 | 191,3 | 52,21 | 21,75 | 17,40 | 4,350 | g/ml |
| 3 | 156,5 | 147,8 | 156,9 | 82,85 | 17,40 | g/ml |

G -6 -P

| Zu-
satz | Nullwert | nach 20
Minuten | nach 40
Minuten | nach 80
Minuten | nach 180
Minuten | g/ml |
|-------------|----------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|------|
| 1 | 14,10 | 4,033 | 2,013 | 0 | 0 | g/ml |
| 2 | 16,07 | 4,022 | 0 | 0 | 0 | g/ml |
| 3 | 14,06 | 12,05 | 26,19 | 0 | 0 | g/ml |

Fettsäure

| Zu-
satz | Nullwert | nach 20
Minuten | nach 40
Minuten | nach 80
Minuten | nach 180
Minuten | Imp/Mi. |
|-------------|----------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------|
| 1 | 0 | 535 | 999 | 1852 | 1780 | Imp/Mi. |
| 2 | 0 | 34 | 52 | 24,5 | 72 | Imp/Mi. |
| 3 | 0 | 32 | 51 | 57,5 | 128 | Imp/Mi. |

Dieser Versuch gleicht sich dem Versuch Nr. 868, dem es war, ja fast die gleichen Lösungen verwendet. Die geringen Abweichungen mögen wohl daher kommen, daß bei Lösung 3 nur 10 mg. Trockenpulver dazugegeben wurden, während es beim anderen Versuch 30 mg waren.

30,1 µg der ATP-Wert nach 180 Minuten auf 1,4 µg/ml, hingegen bei Versuch 483 der Wert nur auf 52,2 µg/ml abgesunken ist. Der G-6-P Wert sinkt hierbei nach 180 Minuten auf 6,033 µg/ml und im anderen Versuch nur auf 76,9 µg/ml.

Fettsäuresynthese wird trotz Anstieg bei ATP und G-6-P gehemmt.

Versuch 903

Die Lösung 1 ist SUP.

Bei Gemisch 2 fügt man dem SUP 0,15 mg Faktor hinzu.

Das Gemisch 3 besteht aus 7,5 mg Essigs, die in dem 0,15 ml. Wasser gelöst ist.

Gemisch 4 besteht aus 0,15 mg Faktor und 7,5 mg Essigsäure, die ebenfalls in 0,15 ml. Wasser gelöst ist.

ATP

| Zu-
satz | Nullwert | nach 20
Minuten | nach 40
Minuten | nach 80
Minuten | µg/ml |
|-------------|----------|--------------------|--------------------|--------------------|-------|
| 1 | 170,7 | 87,12 | 39,12 | 4,366 | µg/ml |
| 2 | 187,2 | 147,9 | 87,01 | 30,62 | µg/ml |
| 3 | 195,8 | 26,08 | 26,10 | 13,10 | µg/ml |
| 4 | 130,6 | 43,59 | 30,51 | 21,83 | µg/ml |

G -6 -P

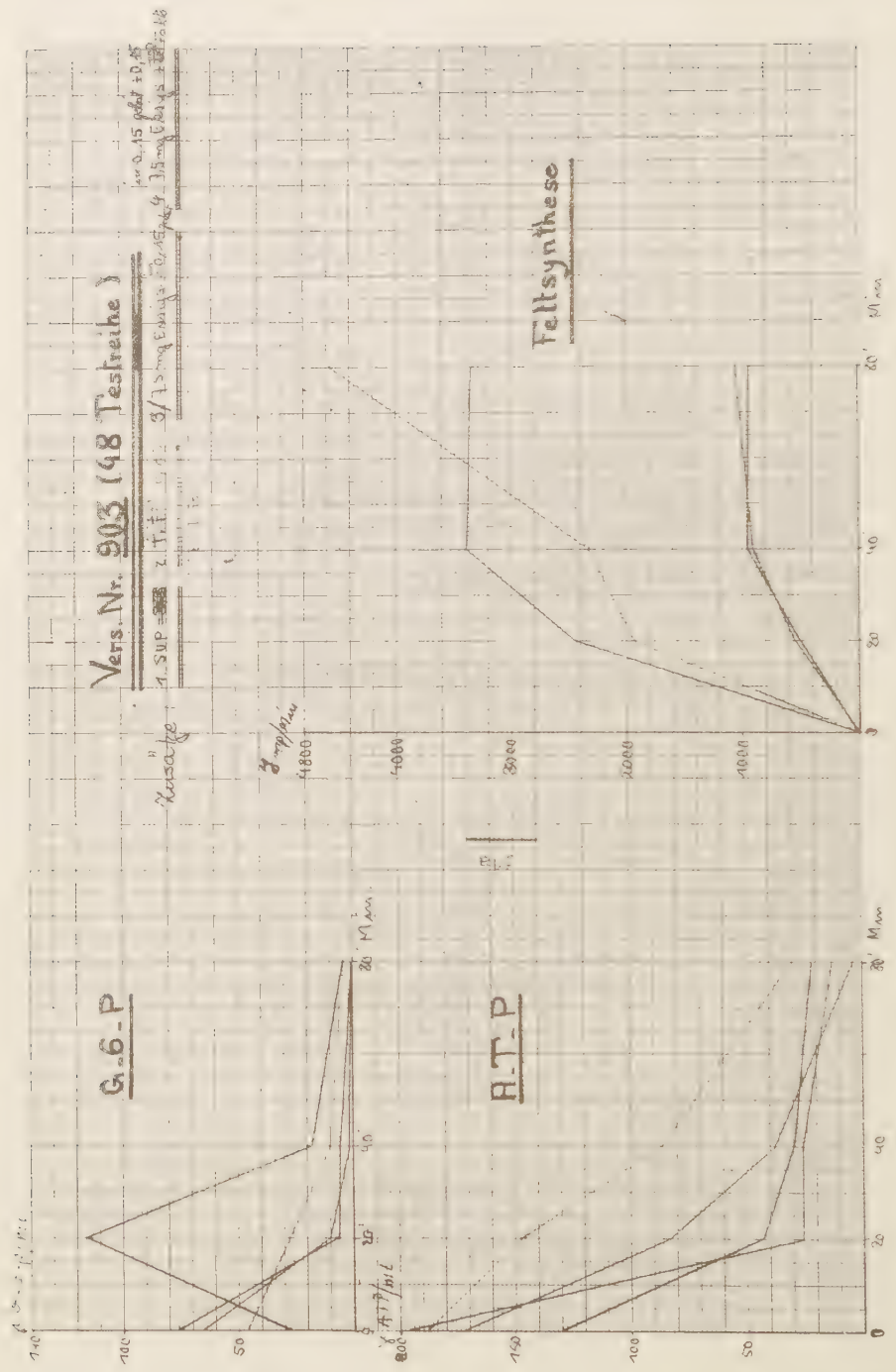
| Zu-
satz | Nullwert | nach 20
Minuten | nach 40
Minuten | nach 80
Minuten | µg/ml |
|-------------|----------|--------------------|--------------------|--------------------|-------|
| 1 | 65,08 | 10,05 | 2,009 | 0 | µg/ml |
| 2 | 46,29 | 28,15 | 10,05 | 4,043 | µg/ml |
| 3 | 76,41 | 8,036 | 6,033 | 0 | µg/ml |
| 4 | 28,18 | 116,7 | 18,13 | 4,325 | µg/ml |

Fettsäure

| Zu-
satz | Nullwert | nach 20
Minuten | nach 40
Minuten | nach 80
Minuten | Imp/Mi. |
|-------------|----------|--------------------|--------------------|--------------------|---------|
| 1 | 0 | 2430 | 3390 | 3360 | Imp/Mi. |
| 2 | 0 | 1960 | 2340 | 4590 | Imp/Mi. |
| 3 | 0 | 583 | 900 | 1060 | Imp/Mi. |
| 4 | 0 | 522 | 960 | 960 | Imp/Mi. |

Zum ersten Mal hat man bei diesem Versuch 4 Zusätze genommen und diese in 20, 40 und 80 Minuten gemessen. Es gab keine besonderen Unterschiede zwischen diesem Versuch und den vorhergehenden. Die Kurven verliefen fast wie die vorhergehenden Versuche und zeigten keinerlei Differenzen.

Überraschenderweise zeigt sich beim 4. Zusatz bei G-6-P nach 20 Minuten ein ganz erheblicher Ausschlag, nämlich 116,7 γ /ml. Ab 40 Minuten nähert es sich dem Nullwert.



ZUSAMMENFASSUNG

Jeder Versuch wurde bereits kurz erläutert und das Ergebnis im großen und ganzen erklärt. Nun werde ich nur auf das Ausschlaggebende zurückkommen.

Bei manchen Versuchen erkennt man, daß von Anfang an im Versuchansatz (Leberhomogenat) eine bestimmte Menge ATP (Adenosintriphosphat) vorhanden ist. Während der Inkubation sinkt die ATP-Menge allmählich ab, so daß Gemisch am Ende des Versuches kein ATP mehr enthält. Die graphische Darstellung zeigt eine stetig abfallend verlaufende Kurve. Aber nach Zugabe von manchen Substanzen ersieht man, daß sie keine abfallend verlaufende Kurven, sondern eine Steigerung zeigen, das heißt, daß durch diese Substanzen eine ATP oder G-6-P Forderung oder Hemmung zustande gekommen ist.

Jedoch gibt es bei manchen Versuchen nach 20 oder 40 Minuten einen Anstieg, z. B. bei dem Versuch Nr. 378. Hier verläuft die Kurve bei Taurocholsäure-Zusatz sowohl bei G-6-P als auch ATP wie bei dem entsprechenden Versuch ohne Zusatz. Es zeigt sich eine Hemmung der Fettsäure-synthese durch Taurocholsäure-Zusatz. In einem anderen Versuch nach Zugabe von Faktor (aus dem Taubenleber gewonnene Mitochondrientraktion) und Taurocholsäure eine Anstieg von ATP- und G-6-P-Menge, aber Fettsäuresynthese wird stark gehemmt, trotzdem der Faktor allein eine Förderung der Fettsäuresynthese hervorruft.

Das gleiche Ergebnis beobachtet man bei dem Versuch Nr. 368. Ebenfalls bei dem Versuch Nr. 356, der an Stelle von Taurocholsäure Essigsäure enthält mit pH=6,6 und Faktor-Zusatz; bei diesem Versuch ist nach 40 Minuten ein Anstieg des ATP und der G-6-P erkennbar, aber auch hier wird die Fettsäuresynthese gehemmt.

Daraus ergibt sich, daß stets durch Faktor-Zusatz allein Förderung der Fettsäure-synthese vorhanden war, aber durch Kombination von Trockenpulver I + Taurocholsäure oder Faktor + Essigsäure oder Trockenpulver I + Caprylsäure eine starke Hemmung der Fettsäuresynthese hervorgerufen wird, trotz Anstieg des ATP und der G-6-P.

Herrn Professor Dr. W. SEITZ danke ich ganz besonders für die Festlegung des Themas der vorliegenden Arbeit.

Frau Dr. Dr. von BRAND bin ich zu verbindlichem Dank verpflichtet für Ihre Hilfe bei der experimentellen Durchführung der Versuche und Auswertung der Ergebnisse.

Nicht zuletzt danke ich auch Fräulein WILDE und Fräulein THÖRING für die freundliche Anleitung bei der Durchführung der Laborarbeiten.

LITERATUR

1. Holloway, B.W. : Arch. Biochem. Biophys. 54, 33 (§ 1954).
2. Hockerts, TH, und Lamprecht, W. : Die Medizinische, Nr. 8, 286 (1957)
3. Lamprecht, W. Habilitationsschrift 1957 TH, München.
4. Bing, R.J. Acta cardiologica 10, 1 (1955).
5. Bing, R.J. Circulation 12, 635 (1955).
6. Bing, R.J. Klin. Wochenschrift 34, 1 (1956).
7. Hockerts, TH. Ann. Nestle 8, 24 (1956).
8. Beiblöck, W. : Acta hepatologica 3, 1/75 (1955).
9. Belova, Z.M. : Klin. Med. (Moskva) 1953, 61.
10. Palladin, A.V. : Wien, Klin. Wschr. 66, 437 (1954).
11. Boettge, K. Jaeger, K.H. und Mittenzwei, H. Das Adenylsäuresystem Arzneimittelforsch. 7, 24.
12. Thorn, W. Pfeleiderer, G. Frowein, R. A. und Ross, 1: Pflügers. Arch. Physiol. 261, 334 (1955).
13. Herbrand, W. und Jaeger, K.H. : Das Adenylsäuresystem 2.
14. Beihelf Z. Arzneimittelforsch.
15. Edictio cantor, Aulendorf/Württ. (1952).

L E B E N S L A U F

Am 4. April 1937 wurde ich als zweites Kind des Kaufmanns Maali Golsorkhi und seiner Ehefrau Soraya, geb. Mirabsadeh in Arak/Iran geboren.

In Teheran besuchte ich von 1944 bis 1950 die Volksschule und anschließend das Gymnasium zu Teheran. Im Mai 1956 legte ich die Reifeprüfung am Gymnasium zu Teheran ab.

Im Sommersemester 1957 begann ich das Studium der Medizin an der Universität München und bestand dort im Wintersemester 1962/64 das medizinische Staatsexamen.

Unter Leitung von Herrn Professor Dr. W. SEITZ fertigte ich im Isotopenlabor der Universitätspoliklinik München meine Doktorarbeit an.

